نشریه علوم درمانگاهی دامپزشکی ایران؛ ۱۴۰۳؛ ۱۸(۱): ۴۷-۵۴.
http://doi.org/ 10.22034/ijvcs.2024.14671.1077

شیوع سرمی تحت تیپ‌های H5، H7 و H9 ویروس آنفلوانزای پرندگان در طیور بومی روستایی استان اردبیل

آیدین عزیزپور

گروه گیاهان دارویی، دانشکده کشاورزی مشکین‌شهر، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل- ایران.

دریافت: ۷ بهمن‌ماه ۱۴۰۲ **پذیرش:** ۷ اردیبهشت‌ماه ۱۴۰۳

چکیده

طیور بومی می‌تواند به‌عنوان مخزن و ناقل ویروس آنفلوانزا سبب گسترش آن به طیور صنعتی شوند. هدف از مطالعه حاضر بررسی میزان آلودگی سرمی طیور بومی روستایی استان اردبیل به تحت تیپ‌های H5، H7 و H9 ویروس آنفلوانزای پرندگان بود. در این بررسی از طیور بومی ۴۰ روستا به طور تصادفی تعداد ۹۴۳ نمونه سرم خون جمع‌آوری شد. بر نمونه‌های سرمی آزمایش ممانعت از هماگلوتیناسیون (HI) طبق دستورالعمل سازمانOIE جهت ردیابی تحت تیپ‌های H5، H7 و H9 ویروس آنفلوانزا انجام گرفت. در این مطالعه از آنتی‌ژن‌های H5N2 و H7N1 به ترتیب برای تحت تیپ‌های H5 و H7 استفاده شد. نمونه‌های مشکوک آزمون اول با آنتی‌ژن‌های H5N1 و H7N7 مورد بررسی قرار گرفتند. سرم‌هایی با تیترهای ≤۴ (یعنی log2) به‌عنوان مثبت در نظر گرفته شدند. از ۴۰ روستای نمونه‌برداری شده تعداد ۳۱ روستا (۷۷/۵ درصد) و از ۹۴۳ پرنده نمونه‌گیری تعداد ۳۲۷ پرنده (۳۴/۷ درصد) برای تحت تیپ H9N2 ویروس آنفلوانزا از نظر سرمی مثبت بودند. تمامی نمونه‌های سرمی مورد بررسی برای تحت تیپ‌های H5N1، H5N2، H7N1 و H7N7ویروس آنفلوانزا منفی بودند. نتایج این بررسی نشان دهندهٔ شیوع سرمی ویروس آنفلوانزای H9N2 و گردش آن در طیور بومی روستایی استان اردبیل است. اجرای اقدامات پیشگیری و کنترلی بیماری از قبیل رعایت اصول بهداشتی و امنیت زیستی، واکسیناسیون و پایش مستمر ویروس‌های در حال گردش در طیور روستایی برای کاهش آلودگی طیور بومی روستایی و جلوگیری از گسترش ویروس به طیور صنعتی ضروری می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: ویروس آنفلوانزا، طیور روستایی، HI، استان اردبیل

مقدمه

آنفلوانزا از مهم‌ترین بیماری‌های مسری پرندگان می‌باشد که به خانواده ارتومیکسوویریده تعلق دارد (۱). ویروس‌های این خانواده دارای تیپ‌های مختلفی هستند که فقط تیپ A در پرندگان اهمیت دارد (۱۹). ویروس‌های تیپ A بر اساس توانایی ایجاد بیماری در ماکیان به دو زیرگروه، با قابلیت ایجاد بیماری‌زایی کم (LPAI) و بیماری‌زایی بالا (فوق‌حاد) (HPAI) تقسیم می‌شوند (۳). تحت تیپ H9 در گروه ویروس‌های LPAI و تحت تیپ‌های H5 و H7 در گروه ویروس‌های HPAI قرار دارند (۴ و ۵). ویروس‌های آنفلوانزا باعث بیماری ملایم تا بسیار شدید با تلفات ۱۰۰ درصد در برخی پرندگان می‌شوند (۶).

ویروس H9N2 آنفلوانزا برای اولین‌بار از بوقلمون در دهه ۱۹۶۰ در آمریکا جداسازی شد و در اوایل دهه ۱۹۹۰ از ماکیان در چین گزارش گردید (۴ و ۱۴). در اواخر دهه ۱۹۹۰ رخداد این بیماری در کشورهای دیگر آسیایی، خاورمیانه و شمال آفریقا نیز نشان داده شد (۱ و ۲۶). در ایران تحت تیپ H9N2 ویروس آنفلوانزا نخستین‌بار در اواسط تیرماه سال ۱۳۷۷ از طیور تجاری اطراف تهران و قزوین تأیید شد و به‌سرعت بین مزارع کشور گسترش یافت و اکنون بومی شده است (۲). اما وقوع بیماری آنفلوانزای فوق‌حاد پرندگان (H5N1) در ایران در سال ۱۳۸۴ از تلفات پرندگان مهاجر در تالاب بندر انزلی گزارش شد و دومین بار نیز در سال ۱۳۸۶ از تلفات طیور بومی اطراف بابلسر جداسازی گردید (۵). پرندگان مبتلا به

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: Aidin_Azizpour@uma.ac.ir

آنفلوانزا ویروس را از طریق ترشحات تنفسی، بزاق و فضولات خود در محیط دفع کرده و به سایر پرندگان انتقال می‌دهند (۷). در خصوص اشاعه ویروس آنفلوانزا علاوه بر انتشار اولیه (انتقال ویروس توسط پرندگان مهاجر از منطقه آلوده به مناطق پاک) و ثانویه (از طریق آب‌های آلوده و یا تماس پرندگان مهاجر با پرندگان بومی) نقش پرندگان خانگی روستایی در ماندگاری، انتقال و گسترش بیماری به مزارع پرورش طیور صنعتی نباید از نظر دور داشت (۱۰، ۲۲ و ۲۴).

پرندگان بومی روستایی به‌عنوان میزان واسط می‌توانند ویروس‌های جدید و تحت تیپ‌های غیربومی را به مزارع تجاری و حتی جوامع انسانی انتقال دهند و از این طریق سبب اپیدمی‌های جدید شوند (۲، ۸ و ۲۲). با توجه به بومی بودن تحت تیپ H9N2 در کشور و گزارش چند همه گیری از ویروس آنفلوانزای فوق‌حاد حاصل از تحت تیپ‌های H5N1 در طیور صنعتی و بومی برخی استان‌ها در طی سال‌های اخیر، احتمال وجود آلودگی و گردش تحت تیپ‌های مختلف ویروس آنفلوانزای پرندگان در طیور روستایی کشور را بالا برده است. از آنجایی که تاکنون مطالعاتی در خصوص وضعیت آلودگی طیور خانگی روستایی استان اردبیل به تحت تیپ‌های مختلف بیماری آنفلوانزا انجام نشده است، لذا انجام چنین تحقیقی ضروری به نظر می‌رسد. بنابراین، هدف از این مطالعه بررسی میزان فراوانی سرمی تحت تیپ‌هایH5، H7 و H9 ویروس آنفلوانزای پرندگان در طیور بومی روستایی استان اردبیل بود.

مواد و روش کار

این مطالعه به روش مقطعی (Cross-sectional) از ابتدای شهریور تا آخر آبان‌ماه سال ۱۳۹۴ در استان اردبیل شامل شهرستان‌های اردبیل، نمین و نیر انجام گرفت. این مناطق استان دارای تراکم بالای طیور تجاری و بازارهای محلی برای خرید و فروش طیور بومی هستند و بدلیل شرایط جعرافیایی نظیر دریاچه نئور و شورابیل و ... هر ساله محل ورود بسیاری از پرندگان مهاجر آبزی می‌باشند. جامعه هدف در این مطالعه، گونه‌های مختلف طیورخانگی روستایی این سه شهرستان بود و انتخاب روستاها به صورت تصادفی ساده انجام گرفت. از قسمت‌های مختلف روستاهایی که طیور بومی شامل مرغ، بوقلمون، اردک، غاز، خروس، کبوتر و سایرین نگهداری یا پرورش داده می‌شدند؛ به صورت تصادفی نمونه‌برداری انجام شد که بر اساس تاریخچه اخذ شده از صاحبان طیور بومی در ۶ ماه قبل از مطالعه واکسنی علیه آنفلوانزا دریافت نکرده بودند. در این بررسی تعداد روستای مورد نیاز برای نمونه‌گیری به گونه‌ای انتخاب گردید که بر اساس شیوع ۵ درصد و با ۹۵ درصد اطمینان بتوان حداقل یک روستای سرم مثبت در هر شهرستان تشخیص داد (۵) همچنین تعداد پرنده مورد نیاز جهت نمونه‌برداری برای تشخیص سرمی در هر روستا به گونه‌ای انتخاب شد که با فرض شیوع سرمی مساوی و بیشتر از ۳۰ درصد و با ۹۵ درصد اطمینان بتوان حداقل یک پرنده مثبت را شناسایی نمود (۵، ۶). با مراجعه به هر روستای انتخابی و به خانوارهای منتخب دارای طیور بومی از هر پرنده با سرنگ ۲/۵ میلی لیتری از ورید بالی به اندازه یک میلی لیتر خون اخذ گردید و بعد از انتقال نمونه‌ها به آزمایشگاه در کنار یخ، سرم آنها جداسازی و در میکروتیوب ۱/۵ میلی لیتری قرار گرفت.

پس از ثبت مشخصات هر نمونه، سرم‌ها تا زمان انجام آزمایش‌ها در فریز ۲۰ - درجه سانتی گراد نگهداری شدند. در نهایت تمامی نمونه‌های سرمی با استفاده از آنتی‌ژن‌های اختصاصی در مورد تحت تیپ‌های H5، H7 و H9 مطابق دستورالعمل سازمان OIE و سازمان دامپزشکی کشور (IVO) مورد آزمایش ممانعت از هماگلوتیناسیون (HI) قرار گرفتند تا از نظر تیتر آنتی‌بادی ضد ویروس آنفلوانزا بررسی شوند (۲۰). لازم بذکر است که برای تفریق تحت تیپ‌های H5 و H7 آزمایش HI در دو مرحله انجام گرفت. در مرحله اول آزمایش HI، آنتی ژن‌های H5N1 وH7N1 به ترتیب برای تحت تیپ‌های H5 و H7 استفاده شدند. سرم‌هایی که در مرحله اول مشکوک بودند برای بررسی مرحله دوم آزمایش HI، آنتی ژن H5N2 (در مورد تحت تیپ H5) وH7N7 (در مورد تحت تیپ(H7 در نظر گرفته شدند (۵ و ۷). ضمناً تحت تیپ H9 با استفاده از آنتی ژن H9N2 مورد بررسی قرار گرفت (۶).

در آزمایش HI محاسبه تیتر آنتی‌بادی بر اساس لگاریتم ۲ انجام گرفت. نمونه‌های سرمی دارای عیار ۴ به بالا به‌عنوان عیار مثبت از نظر ویروس آنفلوانزا تلقی شدند

(۵، ۶ و ۸). پرندگانی که عیار سرمی ۴ به بالا بودند، مثبت و روستاهایی که دارای حداقل یک نمونه مثبت بودند نیز به‌عنوان روستای آلوده در نظر گرفته شدند.

نتایج

تمامی روستاها و نمونه‌های سرمی مورد آزمایش از نظر تحت تیپ‌های H5N1،H5N2، H7N1 و H7N7 ویروس آنفلوانزا منفی بودند. تعداد روستاها و نمونه‌های اخذ شده و فراوانی روستاها و پرندگان سرم مثبت برای تحت تیپ H9N2 ویروس آنفلوانزا به تفکیک شهرستان‌های مورد بررسی در استان اردبیل در جدول ۱ نشان داده شده است. در مطالعه حاضر در مجموع از ۴۰ روستا) اردبیل ۱۵ روستا، نمین ۱۴ روستا و نیر ۱۱ روستا (۹۴۳ پرنده شامل اردبیل ۳۴۵ پرنده، نمین ۳۷۸ پرنده و نیر ۲۲۰ پرنده) نمونه‌برداری شد. از مجموع ۴۰ روستای نمونه‌برداری شده تعداد ۳۱ روستا (۷۷/۵ درصد) و از مجموع ۹۴۳ پرنده نمونه‌گیری شده تعداد ۳۲۷ پرنده (۳۴/۷ درصد) از نظر عیار سرمی برای تحت تیپ H9N2 ویروس مثبت بودند. بیشترین و کمترین فراوانی روستاهای سرم مثبت به ترتیب در نمین با ۹۲/۸درصد و نیر با ۶۳/۷ درصد مشاهده گردید. بیشترین فراوانی نسبی پرنده سرم مثبت مربوط به نمین (۳۶/۵ درصد) و کمترین فراوانی نسبی پرنده سرم مثبت مربوط به نیر (۳۲/۷ درصد) بود.

جدول ۱- فراوانی روستا و پرنده‌های نمونه‌گیری شده و سرم‌های مثبت از نظر ویروس آنفلوانزای H9N2 در استان اردبیل

نام شهر	تعداد روستاهای نمونه‌برداری شده	تعداد (درصد) روستاهای سرم مثبت	تعداد پرندگان نمونه‌گیری شده	تعداد (درصد) پرندگان سرم مثبت
اردبیل	۱۵	۱۱ (۷۳/۳)	۳۴۵	۱۱۷ (۳۳/۹)
نمین	۱۴	۱۳ (۹۲/۸)	۳۷۸	۱۳۸ (۳۶/۵)
نیر	۱۱	۷ (۶۳/۷)	۲۲۰	۷۲ (۳۲/۷)
مجموع	۴۰	۳۱ (۷۷/۵)	۹۴۳	۳۲۷ (۳۴/۷)

نتایج آزمایش HI به تفکیک تعداد و نوع پرنده سرم مثبت و منفی از نظر تحت تیپ H9N2 ویروس آنفلوانزا در جدول ۲ آورده شده است. در این مطالعه از ۹ گونه مختلف طیور بومی، تعداد ۹۴۳ پرنده نمونه‌گیری شد. در بین گونه‌های پرندگان بررسی شده در ۴۰ روستا، فراوانی نمونه‌گیری مربوط به مرغ، بوقلمون، اردک، غاز، خروس، سایر و کبوتر به ترتیب ۳۶/۸ درصد، ۲۰/۱ درصد، ۱۴/۴ درصد، ۱۱/۴ درصد، ۷/۴ درصد، ۵/۴ درصد و ۴/۵ درصد بود. بالاترین درصد سرم مثبت در مرغ و بوقلمون به ترتیب با ۴۰/۱ درصد و ۳۹/۱ درصد و کمترین درصد سرم مثبت نیز در کبوتر و غاز به ترتیب با ۲۵/۶ درصد و ۲۳/۴ درصد مشاهده شد.

جدول ۲- فراوانی پرندگان نمونه‌گیری شده و سرم‌های مثبت و منفی از نظر ویروس آنفلوانزای H9N2

نوع پرنده	تعداد پرنده نمونه‌برداری شده	تعداد (درصد) پرندگان سرم مثبت	تعداد (درصد) پرندگان سرم منفی
مرغ	۳۴۷	۱۳۹ (۴۰/۱)	۲۰۸ (۵۹/۹)
بوقلمون	۱۸۹	۷۴ (۳۹/۱)	۱۱۵ (۶۰/۹)
خروس	۷۰	۲۴ (۳۴/۳)	۴۶ (۶۵/۷)
اردک	۱۳۶	۴۰ (۲۹/۴)	۹۶ (۷۰/۶)
کبوتر	۴۳	۱۱ (۲۵/۶)	۳۲ (۷۴/۴)
غاز	۱۰۷	۲۵ (۲۳/۴)	۸۲ (۷۶/۶)
سایر	۵۱	۱۴ (۲۷/۴)	۳۷ (۷۲/۶)
مجموع	۹۴۳	۳۲۷ (۳۴/۷)	۶۱۶ (۶۵/۳)

فراوانی نمونه‌های سرم منفی و مثبت و میزان تیترهای سرمی نمونه‌های اخذ شده از طیور بومی روستایی شهرستان اردبیل در جدول ۳ نشان داده شده است. در آزمایش HI سرم خون طیور بومی، تعداد ۱۱۷ نمونه سرمی (۳۳/۹ درصد) نسبت به تحت تیپ H9N2 ویروس آنفلوانزا مثبت تشخیص داده شدند. در حالیکه ۲۲۸ نمونه سرمی (۶۶/۱ درصد) از نظر ویروس H9N2 منفی بودند. در سرم طیور بومی مورد بررسی بیشترین و کمترین فراوانی تیتر سرمهای مثبت به ترتیب در عیار سرمی ۵ (۷/۲۴ درصد) و عیار سرمی ۹ (۲/۳۱ درصد) مشاهده شد.

جدول ۳- فراوانی توزیع تیتر سرمی نمونه‌های اخذ شده از طیور بومی روستایی شهرستان اردبیل از نظر ویروس H9N2

تیتر	آزمایش HI							
	کمتر از $۲^{-۴}$	$۲^{-۴}$	$۲^{-۵}$	$۲^{-۶}$	$۲^{-۷}$	$۲^{-۸}$	$۲^{-۹}$	بیشتر از $۲^{-۹}$
تعداد (درصد)	۲۲۸ (۶۶/۱)	۱۸(۵/۲۱)	۲۵(۷/۲۴)	۲۳ (۶/۶۶)	۱۷ (۴/۲۹)	۱۴(۴/۰۵)	۸ (۲/۳۱)	۱۲ (۳/۴۰)
مجموع	۲۲۸ (۶۶/۱)				۱۱۷ (۳۳/۹)			

فراوانی نمونه‌های سرم منفی و مثبت و میزان تیترهای سرمی نمونه‌های اخذ شده از طیور بومی روستایی شهرستان نمین در جدول ۴ نشان داده شده است. در آزمایش HI سرم خون طیور بومی، تعداد ۱۳۸ نمونه سرمی (۳۶/۵ درصد) نسبت به تحت تیپ H9N2 ویروس آنفلوانزا مثبت تشخیص داده شدند. درحالی‌که ۲۴۰ نمونه سرمی (۶۳/۵ درصد) از نظر ویروس H9N2 منفی بودند. در سرم طیور بومی مورد بررسی بیشترین و کمترین فراوانی تیتر سرمهای مثبت به ترتیب در عیار سرمی ۷ (۸/۴۶ درصد) و عیار سرمی بیش از ۹ (۱/۸۵ درصد) مشاهده شد.

جدول ۴- فراوانی توزیع تیتر سرمی نمونه‌های اخذ شده از طیور بومی روستایی شهرستان نمین از نظر ویروس H9N2

تیتر	آزمایش HI							
	کمتر از $۲^{-۴}$	$۲^{-۴}$	$۲^{-۵}$	$۲^{-۶}$	$۲^{-۷}$	$۲^{-۸}$	$۲^{-۹}$	بیشتر از $۲^{-۹}$
تعداد (درصد)	۲۴۰(۶۳/۵)	۲۶(۶/۸۷)	۱۸(۴/۷۶)	۲۱(۵/۵۵)	۳۲(۸/۴۶)	۱۵(۳/۹۶)	۱۹(۵/۰۲)	۷(۱/۸۵)
مجموع	۲۴۰(۶۳/۵)				۱۳۸(۳۶/۵)			

فراوانی نمونه‌های سرم منفی و مثبت و میزان تیترهای سرمی نمونه‌های اخذ شده از طیور بومی روستایی شهرستان نیر در جدول ۵ نشان داده شده است. در آزمایش HI سرم خون طیور بومی، تعداد ۷۲ نمونه سرمی (۳۲/۷ درصد) نسبت به تحت تیپ H9N2 ویروس آنفلوانزا مثبت تشخیص داده شدند. درحالی‌که ۱۴۸ نمونه سرمی (۶۷/۳ درصد) از نظر ویروس H9N2 منفی بودند. در سرم طیور بومی مورد بررسی بیشترین و کمترین فراوانی تیتر سرمهای مثبت به ترتیب در عیار سرمی ۷ (۹/۵۴ درصد) و عیارهای سرمی ۸ و ۹ (۲/۲۷ درصد) مشاهده شد.

جدول ۵- فراوانی توزیع تیتر سرمی نمونه‌های اخذ شده از طیور بومی روستایی شهرستان نیر از نظر ویروس H9N2

تیتر	آزمایش HI							
	کمتر از $۲^{-۴}$	$۲^{-۴}$	$۲^{-۵}$	$۲^{-۶}$	$۲^{-۷}$	$۲^{-۸}$	$۲^{-۹}$	بیشتر از $۲^{-۹}$
تعداد(درصد)	۱۴۸ (۶۷/۳)	۷(۳/۱۸)	۱۹(۸/۶۳)	۱۴(۶/۳۶)	۲۱(۹/۵۴)	۵(۲/۲۷)	۶(۲/۲۷)	۰(۰/۰۰)
مجموع	۱۴۸(۶۷/۳)				۷۲(۳۲/۷)			

بحث

نقش مهم پرندگان بومی روستایی به‌عنوان میزان واسط برای ویروس‌های آنفلوانزا در تحقیقات انجام شده در بسیاری از مناطق مختلف جهان به‌خوبی شناخته شده است. از طریق تماس طیور بومی با پرندگان مهاجر آبزی عبوری ویروس‌های جدید و غیربومی می‌توانند به مزارع طیور صنعتی و حتی جوامع انسانی منتقل و سبب اپیدمی‌های جدید شوند.

بررسی‌های Gilbert و همکاران در سال ۲۰۰۵ در تایلند نشان داد که در گسترش ویروس‌های آنفلوانزای بسیار بیماریزا اردک‌های آزاد نقش حیاتی دارند (۹). Terregino و همکاران در سال ۲۰۰۶ با بررسی ۱۶۴ و ۴۰۸۳ نمونه به ترتیب از پرندگان خانگی و پرندگان وحشی در شمال ایتالیا، ۲۷ جدایه ویروس با قدرت بیماری‌زایی ملایم از گله‌های خانگی و ۴۹ جدایه ویروس از پرندگان وحشی جدا سازی نمودند که در بین ویروس‌های جدا شده از پرندگان وحشی ۲۶ جدایه متعلق به تحت تیپ‌های H5 و H7 بود (۲۶). Mohammadi و همکاران در سال ۲۰۱۰ مطالعه‌ای را در منطقه کوار استان فارس انجام داده و اعلام کردند که از مجموع ۵۰ نمونه سرم اخذه از کبوبران اهلی آن منطقه ۳۴ درصد دارای تیتر آنتی‌بادی برضد ویروس H9N2 آنفلوانزا بودند. ولی در آزمایش RT-PCR نمو نه‌های مدفوع همان پرندگان، ژنوم ویروس تشخیص داده نشد (۱۷). Hadipour و همکاران در سال ۲۰۱۰ تعداد ۷۰۰ جوجه بومی روستایی اطراف دریاچه خزر را بررسی کردند، میزان شیوع کلی ویروس آنفلوانزای H9N2 را در این پرندگان با روش HI ۷۲/۹ درصد گزارش نمودند (۱۰). مطالعات انجام شده توسط Hadipour و همکاران در سال ۲۰۱۱ در ۴ منطقه مختلف ایران نشان داد که در هیچ یک از ۴۰۰ نمونه سرمی متعلق به اردک‌های لجن خوار آنتی‌بادی بر علیه ویروس H5N1 آنفلوانزای فوق‌حاد شناسایی نشد، اما آنتی‌بادی ضد ویروس آنفلوانزای H9N2 وجود داشت (۱۳). در یک بررسی روی طیور بومی اطراف دریاچه مهارلو استان فارس میزان شیوع سرمی ویروس H9N2 آنفلوانزا ۸۱/۶ درصد گزارش شد (۱۲). در مطالعه دیگر توسط Hadipour و همکاران در سال ۲۰۱۱ روی ۲۰۰ نمونه سرمی جمع‌آوری شده از طیور بومی دزفول منطقه شیراز انجام شد ۷۸/۴ درصد اردک‌ها و ۶۲/۹ درصد ماکیان از نظر تیتر سرمی ویروس H9N2 بودند (۱۱). Poursafar و همکاران در سال ۲۰۱۲ در بررسی که روی اردک‌های بومی مناطق روستایی ایران انجام دادند، تحت تیپ‌های H5، H7 و H9 ویروس آنفلوانزا در هیچ یک از نمونه‌های مورد بررسی با روش TR-RCP تشخیص داده نشد (۲۲). Kistler و همکاران در سال ۲۰۱۲ تعداد ۳۲۰۵ نمونه سرم از غازهای کانادایی را از ۹ ایالت مختلف آمریکا جمع اوری کردند که با تست الایزا میزان شیوع ویروس آنفلوانزای A پرندگان ۱۵ درصد درصد گزارش کردند (۱۵). Pawar و همکاران در سال ۲۰۱۲ میزان ۲/۲ درصد اردک‌های بومی بنگال غربی هند را آلوده به تحت تیپ H5 ویروس آنفلوانزا نشان دادند (۲۱). Khatun و همکاران در سال ۲۰۱۳ تعداد ۲۱۰۰ نمونه سرم خون از اردک‌های اهلی بنگلادش را جمع‌آوری کردند، میزان شیوع ویروس H5N1 آنفلوانزای فوق‌حاد را ۰/۰۹درصد گزارش کردند (۱۴). Saadat و همکاران در سال ۲۰۱۴ مطالعه‌ای روی ۱۵۳۰ طیور بومی روستایی استان بوشهر انجام دادند که میزان شیوع ویروس H9N2 آنفلوانزا را ۳۹ درصد بیان کردند (۲۴).

Wu و همکاران در سال ۲۰۱۴ و Lee و همکاران در سال ۲۰۱۴ ویروس‌های جدید آنفلوانزای فوق‌حاد از اردک‌های اهلی را به ترتیب در شرق چین و کره جنوبی به نام ویروس H5N8 شناسایی کردند (۱۶و ۲۷). در تحقیقی که توسط Fallah و همکاران در سال ۲۰۱۵ روی طیور بومی روستایی ایران (۳۹۷ روستا) انجام شد، میزان ۸۶ درصد روستاهای مورد بررسی از نظر ویروس H9N2 آنفلوانزا مثبت مشاهده شدند (۸). در کشور عمان ۳۷/۵ درصد طیور بومی روستایی از لحاظ ویروس H9N2 آنفلوانزا مثبت بود که میزان آلودگی در سطح گله ۸۴ درصد گزارش شد (۱). در بررسی دیگر که طی سال‌های ۱۳۹۲ و ۱۳۹۳ در طیور بومی روستایی ایران انجام شد، میزان شیوع ویروس در سطح روستا ۸۶ درصد در سال ۹۲ و ۸۶/۹ درصد در سال ۹۳ گزارش شد. درحالیکه میزان آلودگی در سطح پرنده ۳۹ درصد در سال ۹۲ و ۳۱/۱ درصد در سال ۹۳ بود (۶). در تحقیقی که دیگر در شهریور تا آذرماه ۱۳۹۳ روی طیور بومی و صنعتی کشور انجام شد که از بین ۱۳۷۸ واحد بررسی شده یک واحد

(باغ پرندگان) در مورد تحت تیپ H7 و ۶ واحد (۲ واحد باغ پرندگان، ۳ واحد روستایی و یک مزرعه پرورش شترمرغ) در مورد تحت تیپ H5 مثبت بودند (۷). Rashid و همکاران در سال ۲۰۱۷ اولین‌بار ویروس H5N1 آنفلوانزا را از طیور بومی استان سلیمانیه عراق جداسازی کردند (۲۳). مطالعات سرولوژیک و مولکولی انجام شده بر روی مرغان بومی روستایی (بدون سابقه واکسیناسیون بر علیه ویروس آنفلوانزا) در استان اصفهان نشان داد که کلیه مرغان بومی بررسی شده از نظر تیتر آنتی‌بادی بر علیه ویروس H9N2 آنفلوانزا مثبت بودند و در آزمایش‌های مولکولی تمامی نمونه‌های سوآب از نظر تحت تیپ‌های H5 و H7 منفی بودند (۱۰). Fallah و همکاران در سال ۲۰۱۸ تعداد ۱۳۱۵ گله از طیور صنعتی و بومی ایران را از نظر آلودگی سرمی به تحت تیپ‌های H5 و H7 ویروس آنفلوانزا بررسی کردند که در هیچ یک از نمونه‌های مورد آزمایش تحت تیپ H7 ویروس شناسایی نشد، ولی تعداد ۳ گله طیور صنعتی و ۲ گله طیور روستایی از نظر تحت تیپ H5 مثبت بودند (۵). Zhu و همکاران در سال ۲۰۱۸ در چین سه جدایه مختلف ویروس H9N2 را از غازهای اهلی با علایم بیماری آنفلوانزا جداسازی نمودند (۲۸). Mon و همکاران در سال ۲۰۲۱ تعداد ۷۸۸۰۴ نمونه سرم از اردک‌های بومی در میانمار بین سال‌های ۲۰۰۶ و ۲۰۱۹ جمع‌آوری کردند که ۱۱/۹ درصد نمونه‌ها از نظر ویروس آنفلوانزای فوق‌حاد پرندگان (H5) مثبت تشخیص داده شدند (۱۸). در تحقیقی که در خصوص وضعیت آلودگی طیور بومی استان‌های شمالی ایران انجام شد در مجموع ۹۶ درصد روستاها و ۵۶ درصد پرندگان از نظر تحت تیپ H9N2 ویروس آنفلوانزا مثبت تشخیص داده شدند (۴). بررسی دیگر توسط Saeed و همکاران در سال ۲۰۲۱ در استان سلیمانیه، عراق تحت تیپ H5N8 ویروس آنفلوانزای فوق‌حاد برای اولین‌بار از یک گله غاز اهلی پرورش یافته ردیابی شد (۲۵).

در این مطالعه آلودگی سرمی به تحت تیپ‌های H5N1، H5N2، H7N1 و H7N7 ویروس آنفلوانزای فوق‌حاد پرندگان مشاهده نشد. ۷۷/۵ درصد از روستاهای مورد بررسی و ۳۴/۷ درصد سرم‌های مورد آزمایش از نظر تحت تیپ H9N2 ویروس آنفلوانزا مثبت بودند که این یافته مطابق با نتایج گزارش‌های پیشین (۱، ۴، ۶ و ۸) که میزان شیوع سرمی ویروس در سطح پرنده نسبت به سطح روستا کمتر است، مطابقت دارد. در این بررسی میزان شیوع ویروس H9N2 آنفلوانزا در طیور بومی در سطح پرنده (۳۴/۷ درصد) همانند سایر گزارش‌ها در ایران و سایر کشورها (۴، ۶، ۸، ۱۰، ۱۱، ۱۲ و ۱۹) بالای ۳۰ درصد می‌باشد. مطالعات انجام شده قبلی نشان می‌دهد که میزان شیوع سرمی آنفلوانزا در طیور بومی در مناطق مختلف کشور متفاوت است. تفاوت میزان شیوع ویروس در استان‌های مختلف به دلایلی از جمله عدم رعایت اصول امنیت زیستی، نوع و میزان متفاوت ویروس‌های در حال گردش در طیور بومی، نوع تکنیک‌های آزمایشگاهی بکار رفته در تشخیص ویروس‌ها، تغذیه آزادانه این پرنده‌ها در محیط، تراکم طیور بومی، گونه پرنده‌های پرورشی، نوع سیستم نگهداری و پرورشی، ارتباط و تماس بین با پرندگان مهاجر، سنین متفاوت پرندگان روستایی، شرایط اقلیمی و آب‌وهوایی، سطح ایمنی طیور بومی، مقاومت ژنتیکی برخی گونه‌های پرندگان و ارتباط بین پرورش‌دهندگان طیور صنعتی با افراد روستا مربوط می‌باشد (۲۹).

نتایج این بررسی بیانگر شیوع سرمی ویروس H9N2 آنفلوانزا و گردش آن بین طیور بومی استان اردبیل است که این گزارش برای اولین‌بار در خصوص بررسی فراوانی سرمی تحت تیپ‌های مختلف ویروس‌های آنفلوانزا پرندگان در طیور بومی روستایی استان اردبیل می‌باشد؛ بنابراین هرگونه تماس مستقیم و غیرمستقیم طیور بومی با واحدهای صنعتی طیور پرورشی یا انسان می‌تواند گسترش‌دهنده ویروس و سبب اپیدمی‌های جدید شود. پس ضمن توجه به مسائل مربوط به امنیت زیستی؛ مانند جلوگیری از تماس طیور بومی با سایر پرندگان از جمله پرندگان وحشی و...، اجرای برنامه‌های بهداشتی و کنترلی نظیر پایش مستمر و دقیق ویروس‌های در حال گردش آنفلوانزا و واکسیناسیون در طیور بومی روستایی ضروری به نظر می‌رسد.

منابع

1-Al Shekaili, T; Clough, H; Ganapath, K. and Baylis, M; Sero-surveillance and

Sadrzadeh, A. and Ghafouri, S. Seroepidemiology of avian influenza (H9N2) in rural domestic poultry of Iran: A cross-sectional study. Iranian. J. Epid; 2015; 10(4):1-9.

9-Gilbert, M; Xiao, X; Chaitaweesub, P; Kalpravid. W; Premashthira, S; Boles, S; Avian influenza, domestic ducks and rice agriculture in Thailand. Agri. Eco. Envir; 2007; 119(3-4):409-415.

10-Hadipour, M; Seroprevalence survey of H9N2 avian influenza virus in backyard chickens around the Caspian Sea in Iran. Brazilian. J. Poul. Sci; 2010; 12 (1):53-55.

11-Hadipour, M. and Golchin, P; Serosurvey of H9N2 avian influenza virus during respiratory disease outbreaks in broiler flocks in Dezful, southern Iran. Bulgarian. J. Vet. Med; 2011; 14(1):62-65.

12-Hadipour, M; Habibi, G. and Vosoughi, A; Prevalence of antibodies to H9N2 avian influenza virus in backyard chickens around Maharlou lake in Iran. Pak. Vet. J; 2011; 31(3):192-194.

13-Hadipour, M; Hadipourfard, M; Shayanpour, N; Fakhrabadipour, M. and Azad, F; Surveillance of scavenging ducks for low-pathogenicity (H9N2) avian influenza virus. J. Anim.Vet. Advanc; 2011; 10(12):1543-1545.

14-Khatun, A; Giasuddin, M; Islam, K.M; Khanom, S; Samad, M.A. and Islam, M.R; Surveillance of avian influenza virus type A in semi-scavenging ducks in Bangladesh. BMC. Ve.t Res; 2013; 9:1-8.

15-Kistler, W.M; Stallknecht, D.E; Deliberto, T.J; Swafford, S; Pedersen, K. and Why, K.V; Antibodies to avian influenza viruses in Canada geese (Branta canadensis): a potential surveillance tool? J. wildlife. Dis; 2012; 48 (4):1010-101.

risk factors for avian influenza and Newcastle disease virus in backyard poultry in Oman. Pre. Vet. Med; 2015; 122 (1-2): 145-153.

2-Azizpour, A. A Serological survey of H5, H7 and H9 Subtypes of avian influenza viruses in domestic geese's and ducks of rural areas around Neor Lake in Ardabil province, Iran. J. Com. Pathob; 2022; 19(2): 3865-3872.

3-Azizpour, A; Goudarzi, H; Banani, M. and Moghaddaszadeh, M; Effect of secondary infection with H9N2 avian influenza virus on tissue tropism and dissemination of Ornithobacterium rhinotracheale in SPF chickens. Iranian. J. Vet. Clini. Sci; 2018; 12(1): 69-80.

4-Ebrahimi, M; Grigorian, S;, Fallah Mehrabadi, M. and Shoushtari, A; Serological survey of H9N2 influenza viruses in rural chicken of Northern provinces, Iran. Vet. Res. Biol. Prod; 2021; 34(1): 15-25.

5-Fallah Mehrabadi. M; Bahonar, A; Marandi, M; Sadrzadeh, A. and Tehrani, F; Sero-survey of H5 & H7 sub types of avian influenza in commercial and backyard poultry of Iran-2014. J. Vet. Res; 2018; 73(1): 47-53.

6-Fallah Mehrabadi, M; Bahonar, A; Sadrzadeh, A; Vasfi Marandi, M, and Tehrani, F.M; Spatial patterns and clusters analysis of avian influenza H9N2 sub type in backyard poultry-2014 and 2015. Vet. Res. Biol. Prod; 2017; 30(1):2-13.

7-Fallah Mehrabadi, M,F;, Bahonar, A;, Tehrani, F; Marandi, M.V. and Sadrzadeh, A; Shabani M. Determinants and Sero-Prevalence of Avian Influenza (H5 & H7 Sub Types) in Industrial and Backyard Poultry of Iran -2014. Iranian. J. Epid; 2016; 12 (1):19-27.

8-Fallah Mehrabadi, M; Bahonar, A; Tehrani, F; Vasfi Marandi, M;

16-Lee, Y.J; Kang, H.M; Lee, E.K; Song, B.M; Jeong, J. and Kwon, Y,K; Novel reassortant influenza A (H5N8) viruses, South Korea, 2014. Emerging. Infect. Dis; 2014; 20(6):1087-1089.

17-Mohammadi, A; Massoudian, M; Nemati, Y. and Seifi, S; Serological and molucular study of avian influenza subtype H9N2 in domestic pigeons in Kavar area of Fars province, Iran. Iranian. Vet. J; 2010; 6(2): 61-66.

18-Mon, H.H; Hadrill, D; Brioudes, A; Mon, C.C.S; Sims, L. and Win, H,H; Longitudinal Analysis of Influenza A (H5) Sero-Surveillance in Myanmar Ducks, 2006–2019. Microorg; 2021; 9(10):2114-2121.

19-Nabinejad, A; Azarbayejany, A.R; ND and AI diseases investigation in native chickens of two different climates of Isfahan province. Vet. Res. Biol. Prod; 2019; 32(3): 19-29.

20-OIE; Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals 2017. Chapter 2.3.4. Avian influenza (infection with avian influenza viruses) (NB: Version adopted in May 2015).

21-Pawar, S.D; Kale, S.D; Rawankar, A.S; Koratkar, S.S; Raut, C.G. and Pande, S.A; Avian influenza surveillance reveals presence of low pathogenic avian influenza viruses in poultry during 2009-in the West Bengal State, India. Vir. J; 2012; 7(1): 9.151-163.

22-Poursafar, F; Karimi, V; Charkhkar, S; Langeroudi, A. and Maghsoudlou, H; Molecular surveillance of avian influenza virus in domestic ducks: a provincial study. J Vet Res, 2012, 67(4): 345-351.

23-Rashid, P.M; Saeed, N.M. and Dyary, H.O; Genetic characterization and phylogenic analysis of H5N1 avian influenza virus detected in peafowl in Kirkuk province, Iraq. J. Med. Virol; 2017; 89(7):1179-1185.

24-Saadat, Y; Ghafouri, S.A; Tehrani, F. and Langeroudi, A.G; An active serological survey of antibodies to newcastle disease and avian influenza (H9N2) viruses in the unvaccinated backyard poultry in Bushehr province, Iran, 2012–2013. Asian. Pacif. J. Trop. Biomed; 2014; 4:S213-6.

25-Saeed, N.M; Rashid, P.M.A. and Dyar, H.O; Genetic characterization of highly pathogenic avian influenza A (H5N8) virus isolated from domestic geese in Iraq, 2018. BMC. Vet. Res; 2021;17(1):1-7.

26-Terregino, C; De Nardi, R; Guberti, V; Scremin, M; Raffini, E. and Moreno Martin, A; Active surveillance for avian influenza viruses in wild birds and backyard flocks in Northern Italy during 2004 to 2006. Avian. Path; 2007; 36(4):337-344.

27-Wu, H; Peng, X; Xu, L; Jin, C, Cheng, L. and Lu, X; Novel reassortant influenza A (H5N8) viruses in domestic ducks, eastern China. Emerging. Infect. Dis; 2014; 20(8):131-1318.

28-Zhu, R; Yang, X; Zhang, J; Xu, D; Fan, J. and Shi, H; Identification, sequence analysis, and infectivity of H9N2 avian influenza viruses isolated from geese. J. Vet. Sci; 2018; 19(3):406-41.

29- Azizpour, A. Serological survey of Avian Influenza viruses H5, H7 and H9 subtypes in Live Birds Markets of Ardabil city in Iran. J. Com. Pathob; 2023; 20(3): 4185-4192.

Vol. 18 - No. 1
Spring & Summer 2024

Iran. J. Vet. Clin. Sci.; 2024; 18(1):47-54.
http://doi.org/ 10.22034/ijvcs.2024.14671.1077

Seroprevalence of H5, H7 and H9 subtypes of avian influenza viruses in rural domestic poultry of Ardabil province, Iran

Aidin Azizpour

Department of Medical Plants, Faculty of Agriculture, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil- Iran.

Received: 26 January 2024 ***Accepted:*** 26 April 2024

Summary

Backyard poultry can cause spread the virus to industrial poultry as reservoirs and vectors. The aim of this study was to survey seroprevalence of H5, H7 and H9 subtypes of avian influenza virus in rural domestic poultry of Ardabil province, northwest of Iran. In this study, 943 blood serum samples were randomly collected from backyard poultry of 40 villages. The hemagglutination inhibition (HI) test was performed on the serum samples according to OIE protocol to detect H5, H7 and H9 subtypes of influenza virus. In this study antigens H5N2 and H7N1 were used for H5 and H7, respectively. Suspicious samples on the first test were examined with the second antigens, namely H5N1 and H7N7. Moreover, sera with titers ≥4 (i.e. log2) were considered positive. Out of 40 sampled villages, 31 villages (77.5%) and out of 943 birds sampled, 327 birds (34.7%) were positive for H9N2 subtype of influenza virus. All the examined sera were negative for H5N1, H5N2, H7N1 and H7N7 subtypes of influenza virus. The results of this study showed that seroprevalence of H9N2 influenza virus and its circulation in rural domestic poultry of Ardabil province. The implementation of disease prevention and control measures such as compliance biosecurity principles, vaccination and continuous monitoring of circulating viruses in rural poultry to reduce the contamination of domestic poultry and prevent the spread of the virus to industrial poultry are necessary.

***Keywords*:** Influenza viruses, rural poultry, HI, Ardabil province

***Corresponding author:** Aidin_Azizpour@uma.ac.ir